



دانشگاه علوم پزشکی
و خدمات بهداشتی درمانی بوشهر

عنوان طرح:

بررسی غلظت پلاسمایی گرلین در بیماران مبتلا به آلزایمر

مجری طرح:

دکتر صمد اکبرزاده

موسسه حمایت کننده :

دانشگاه علوم پزشکی بوشهر

۱۳۸۷-۱۳۸۹

پیشگفتار:

مدت های زیادی از کشف بیماری آلزایمر می گذرد اما هنوز درمان قطعی و پیشگیری برای این بیماری یافت نشده است. همین امر موجب انجام این پروژه با هدف یافت درمان یا حداقل پیدا کردن راهی برای تشخیص این بیماری گردید.

با بررسی مارکرهای بیوشیمی خون افراد مبتلا به آلزایمر و مقایسه ی آن با افراد سالم شاید بتوان به فاکتورهایی دسترسی پیدا کرد که ایجاد کننده بیماری باشند یا در طی این بیماری ایجاد شوند . گرلین به عنوان یک ماده ی موثر در حافظه می تواند در بیماری آلزایمر نقش مهمی ایفا کند که هدف ما انجام از این پروژه مشخص کردن نقش گرلین و درکنار آن سایر مارکرهای بیوشیمیایی است.

به این دلیل که بیماران افراد سالخورده و مبتلا به بیماری آلزایمر بودند و از نظر حافظه دچار مشکل بودند جمع آوری اطلاعات و همین طور گرفتن آزمایش خون از آنان یکی از مشکلات اصلی این پروژه بود که ما با آن مواجه بودیم.

با توجه به این که کیت گرلین در ایران موجود نیست ما مجبور شدیم آن را از خارج از کشور سفارش دهیم.

یکی دیگر از مشکلاتی که با آن مواجه بودیم کم بودن تعداد بیماران مبتلا به آلزایمر در استان بوشهر بود که برای حل این مشکل ما بازه ی زمانی پروژه را طولانی تر کردیم.

همکاری مراکز سالمندان بوشهر و برازجان در این پروژه نقش بسیار زیادی ایفا کرد. در نهایت امید بر این است که دنیای جدید رو به جلوی علم بتواند راهی برای این درمان بیماری پیدا کند و از مشکلاتی که برای بیمار و خانواده اش ایجاد می شود جلوگیری کند.

سپاسگذاری:

از همکاران عزیز و گرامی خانم فرزانه یوسفی، خانم دکتر فاطمه خسروی زادگان، آقای دکتر سجاد اقبالی، آقای دکتر هومان سلیم پور، آقای دکتر آرش مولا، آقای دکتر مجتبی جعفری، خانم دکتر نیلوفر معتمد، خانم نجمه حاجیان، آقای عبدی و خانم حضرتی کمال قدردانی به عمل می آید. همچنین از مرکز تحقیقات سلامت خلیج فارس، خانه سالمندان بوشهر و برازجان به علت همکاری صمیمانه شان کمال تشکر و قدردانی به عمل می آید.

فهرست مندرجات :

۳	خلاصه گزارش
۴	مقدمه
۵	مروری بر مطالعات قبلی
۶	مواد و روش ها
۷	یافته ها
۸	نتیجه گیری
۷	منابع

خلاصه گزارش :

آلزایمر یک بیماری شایع است که با از دست دادن قدرت حفظ اطلاعات علی الخصوص حافظه کوتاه مدت در دوران پیری خود را نشان می دهد.

گرلین یک پپتید ۲۸ اسید آمینه ایی است که عمدتاً توسط سلول های ترشح کننده اسید معده و به مقدار کمتر در کبد و کلیه و ریه و هیپوتالاموس تولید و ترشح می شود. این ماده در بدن به ۲ شکل دیده می شود از جمله acyl , desacyl که فرم acyl آن از سد خونی مغزی عبور می کند. مطالعات زیادی در رابطه با ارتباط گرلین و آلزایمر انجام نشده است اما در عین حال شواهد و مدارک نشان می دهد که ارتباطی میان فرم acyl تولید شده توسط هیپوتالاموس و میزان حافظه افراد وجود دارد.

این مطالعه بر روی دو گروه کنترل و بیمار بررسی شده است. گروه بیمار شامل افرادی است که بیماری آلزایمر آنها توسط تست MMSE تشخیص داده شده بود. گروه کنترل نیز شامل افراد سالم از نظر آلزایمر و سایر بیماری ها است. گروه بیمار شامل ۳۷ نفر است که ۲۳ نفر زن هستند و گروه کنترل ۳۴ نفر است که ۲۰ نفر زن می باشند. آزمایشات FBS-TG-CHOL-HDL LDL-URIC ACID توسط اتوآنالیز و همچنین قد و وزن تمام افراد چک شد و غلظت پلاسمایی گرلین توسط متد ELISA اندازه گیری شد. یافته ها توسط SPSS15 مورد بررسی قرار گرفت و $P \leq 0.05$ معنی دار تلقی گردید.

سطح پلاسمایی گرلین در دو گروه تفاوت معنی دار داشت که برای گروه بیمار $18,61 \pm 8,01$ و برای گروه کنترل $14,73 \pm 2,31$ به دست آمد.

با توجه به مطالعه ی حاضر سطح پلاسمایی گرلین در گروه بیمار بالاتر از گروه کنترل بود. بنابراین ممکن است بتوان از اندازه گیری غلظت پلاسمایی گرلین جهت تشخیص آلزایمر استفاده نمود. کلید واژه ها : آلزایمر , گرلین , حافظه

مقدمه:

بیماری آلزایمر بیشتر از ۵۰٪ افراد Dementia را شامل می شود Dementia اغلب بر روی ۷٪ از تمام افراد بالای ۶۵ سال و ۳۰٪ از افراد بالای ۸۰ سال مؤثر می باشد. (۱ از رفرنس Ghrelin-1) به نظر می رسد شیوع افراد Dementia در ۳۰ سال آینده دو برابر شود در حالیکه شیوع آلزایمر در ۵۰ سال به بیش از ۳ برابر برسد (۲ از روش Ghrelin-1) .

تئوری قابل قبول و رایج در مورد پاتوژنز آلزایمر تئوری آمیلوئید می باشد که اشاره بر رسوب پلاک های آمیلوئیدی در مغز دارد (۳ از Ghrelin-1) دلایلی نیز مبنی بر پاتولوژی مغزی و عروقی و ارتباط پارامترهای سندرم متابولیک با بیماری آلزایمر وجود دارد (۴-۶ از روش Ghrelin-1). گرلین یک هورمون پلی پپتیدی است که بوسیله Kojima و همکارانش در سال ۱۹۹۹ کشف شد (۱ از Ghrelin-14). این پپتید ۲۸ اسید آمینه ای ممکن است در توسعه چاقی و سندرم متابولیک از طریق کنترل تعادل انرژی، جذب غذا و تنظیم وزن بدن مؤثر باشد (۱ و ۲ از Ghrelin-4). همچنین بر تحریک اشتها، خواب، کنترل معده و متابولیسم گلوکز مؤثر است (۳ از Ghrelin-2). ژن گرلین بر روی کروموزوم ۳ ($3P^{25-26}$) قرار دارد و بصورت پره پرو هورمون بوسیله ۵ اکسون کد می شود (۲ از Ghrelin-4).

از طریق اثر بر اشتها، افزایش کاتابولیسم قند و کاهش کاتابولیسم چربی باعث چاقی می گردد (۲۶، ۸ و ۲ از ارزیابی گرلین). علاوه بر تحریک ترشح هورمون رشد بر ترشح پرولاکتین و ACTH نیز نقش دارد (۴ از Ghrelin-5).

دو فرم از گرلین بنامهای آسیله و غیر آسیله در پلاسما چرخش می کند. اگر چه فرم آسیله عمده فعالیت بیولوژیکی را بعهدده دارد اما ممکن است فرم غیر آسیله فعالیت بیولوژیکی دارا باشد (Ghrelin-10).

فرم آسیله شامل یک مولکول گرلین استریفیه شده با یک اکتانویک اسید درموقعیت سرین ۳ می باشد (۱۱ از Ghrelin-14).

فرم غیر آسایله و غیر فعال گرلین در جریان خون غلظت خیلی بالاتری نسبت به فرم آسایله فعال دارد. گرلین فعال ۵-۲ درصد از گرلین توتال را در جوندگان و کمتر از ۱۰ درصد را در انسان شامل می شود (Ghrelin-15 از ۱۳). بدلیل اینکه گرلین با تنظیم تعادل انرژی ، پارامترهای سندرم متابولیک و پروسه شناختی ارتباط دارد بنابراین بنظر می رسد که در بیماری آلزایمر تغییر نماید که در این مطالعه به این امر پرداخته شد.

مروری بر مطالعات قبلی :

گرلین در دسامبر ۱۹۹۹ توسط Kojima M و همکارانش کشف شد. نام گرلین از ریشه ی « ghre » به معنی رشد و « relin » به دلیل اثر عملکرد آزادسازی هورمون رشد گرفته شده است. گرلین یک پپتید ۲۸ اسید آمینه ای است که توسط یک اسید چرب استری می شود. این هورمون اهمیت زیادی در بدن دارد و توسط قسمت های مختلفی ساخت و ترشح می شود اما بیشتر توسط معده تولید می شود.

گرلین بر اعمال بدن تأثیر می گذارد: هنگام کمبود غذا موجب افزایش اشتها می شود. ترشحات اندوکراین و اگزوکراین پانکراس را تنظیم می کند و بر ترشح انسولین اثر می گذارد، موجب تقویت حافظه می شود و ...

اخیراً اثرات گرلین بر سیستم اندوکراین بدن بسیار اهمیت یافته است و آن را یک عامل مهم برای تنظیم سیستم اندوکراین بدن می دانند.

در حال حاضر مطالعات زیادی در زمینه بررسی سطح پلاسمایی گرلین در بیماری آلزایمر انجام نشده است اما بعضی از مطالعات ارتباطی بین فرم فعال گرلین و حافظه ثابت کرده اند .

مواد و روش ها :

در این پروژه که از سال ۱۳۸۷ تا ۱۳۸۹ بمدت ۲ سال طول کشید تعداد ۷۱ نفر در دو گروه افراد آلزایمر تحت گروه مورد مطالعه و گروه سالم تحت عنوان گروه کنترل مورد مطالعه قرار گرفتند.

گروه مورد ۲۳ نفر زن و ۱۴ نفر مرد با سنین

75.02 ± 13.68 از افراد آلزایمری ساکن خانه سالمندان بوشهر و برازجان و همچنین افراد مراجعه کننده به کلینیک اعصاب و روان وارد مطالعه گردیدند. با استفاده از شواهد بالینی و تست MMSE (که مشخص کننده شدت بیماری آلزایمر است) افرادی که امتیاز زیر ۲۵ گرفتند در گروه مورد و امتیاز بالای ۲۵ در گروه کنترل قرار گرفتند.

در گروه شاهد ۲۰ نفر زن و ۱۴ نفر مرد بدون آثار و علائمی از آلزایمر (امتیاز بالای ۲۵) که برای چکاب به کلینیک ابوالفضل و مراکز روانپزشکی مراجعه می کردند انتخاب گردیدند. جهت ورود به این مطالعه از تمامی بیماران یا همراهانشان رضایت نامه کتبی گرفته شد. توسط کارشناس ماهر پرسشنامه ای مربوط به سابقه بیماریهای خاص و مدت ابتلا به آن بیماری و مصرف داروهای خاص مربوط به افراد شرکت کننده در مطالعه تکمیل گردید و در صورت وجود فاکتور مداخله کننده از مطالعه حذف شدند. همچنین اطلاعات آنترپومتریک نظیر سن، جنس، قد و وزن در این پرسشنامه آورده شد که در جدول ۱ نشان داده شده است. عمل خونگیری از این افراد پس از ۱۲ ساعت ناشتای شبانه ساعت ۷.۳۰ تا ۹.۳۰ دقیقه صبح در خانه سالمندان بوشهر و برازجان، آزمایشگاه بیوشیمی دانشگاه علوم پزشکی بوشهر و آزمایشگاه تخصصی رازی انجام گرفت. بدلیل اینکه فرم اسید و فعال گرلین ناپایدار است و سریعاً بوسیله الاستاز و پروتئاز خون به فرم غیراسید و غیرفعال تبدیل می شود (۱۳ و ۲۲ از Ghrelin-15)، برای جلوگیری از این کار بدین ترتیب عمل شد که ۱۰ سی سی خون گرفته شد و فوراً ۱/۵ سی سی از آن به لوله های پلی پروپیلن حاوی EDTA- $2Na$ (۱mg/ml) و $500 U/ml$ اپروتین (جهت جلوگیری از غیرفعال شدن گرلین) اضافه گردید و بعد در دمای ۴ درجه سانتی گراد به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۱۵۰۰ سانتریفیوژ شد و پلاسما

حاصله با اضافه کردن HCl یک نرمال (0.1ml/ml) در چند ویال جداگانه در فریزر ۸۰- درجه سانتی گراد برای اندازه گیری گرلین نگهداری شد. گرلین بوسیله روش ELISA (کیت شرکت DRG) اندازه گیری شد. اندازه گیری بقیه پارامترهای بیوشیمیایی نظیر قند خون، کلسترول، تری گلیسرید، HDL کلسترول بوسیله اتوانالیزر 2 selectra (Vital Scientific, Spankeren, the Netherlands) انجام گردید. گلوکز بوسیله روش آنزیمی گلوکز اکسیداز، کلسترول بوسیله روش آنزیم کلسترول اکسیداز، تری گلیسرید بوسیله گلیسرول فسفات اکسیداز و HDL کلسترول بوسیله روش رسوب پلی انیونیک و آنزیم کلسترول اکسیداز اندازه گیری شد. LDL کلسترول بوسیله فرمول فرید والد اندازه گیری شد. اندازه گیری اسید اوریک با استفاده از خاصیت احیا کننده گی آن و احیاء شدن فسفوتنگستات صورت گرفت. این مطالعه بوسیله کمیته اخلاق و دانشگاه علوم پزشکی بوشهر مورد تایید قرار گرفت.

تست KOLMAGROR-SMIRNOR برای تعیین خصوصیات توزیع متغیرها و independent t test (برای توزیع نرمال اطلاعات) ارزیابی گردید. ضریب Pearson correlation برای ارزیابی بین مقادیر گرلین و پارامترهای آنترپومتریکی و متغیرهای بیوشیمیایی بین گروهها مورد استفاده قرار گرفت. آنالیز آماری توسط spss ورژن ۱۵ (spss, Chicago, IL) انجام گرفت و P کمتر از ۰/۰۵ بعنوان معنی دار تلقی گردید.